

マウス骨髄における顆粒球・単球系細胞の分化に及ぼす運動の影響

著者	吉田 祐子
号	12
発行年	1999
URL	http://hdl.handle.net/10097/21918

氏 名（本籍）	よし 吉	だ 田	ゆう 祐	こ 子
学 位 の 種 類	博 士 （ 障 害 科 学 ）			
学 位 記 番 号	医 博（障）第 1 2 号			
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 25 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）障害科学専攻			
学 位 論 文 題 目	Physical exercise modulates maturation of myelomonocytic bone marrow cells. （マウス骨髄における顆粒球・単球系細胞の分化 に及ぼす運動の影響）			
	（主 査）			
論 文 審 査 委 員	教授 大 森 浩 明	教授 佐 藤 徳太郎		
	教授 伊 藤 恒 敏			

論文内容要旨

目 的

免疫機構は生体防御における重要な機構の一つであり、様々な病態に関わる。近年、運動時における免疫機能の適応についての報告が多くなされており、運動が免疫細胞の機能や分布の変容に作用することが明らかになっている。筆者らも運動時の免疫機能の変化について注目し検討を行ってきた。マウスを用いた検討では、数週間のトレッドミル運動後、リステリア菌感染に対する抵抗率の改善や、活性化能の高い腹腔マクロファージが誘導されることを明らかにしてきた。さらに運動終了後も長期間このようなマクロファージが同定されることから、マクロファージ前駆細胞である単球の分化成熟過程に運動の効果が及んだのではないかとの推測がなされた。そこでこの仮説を検証するため、マウス骨髄における顆粒球・単球系細胞の分化に及ぼす一過性の運動の影響を検討した。

方 法

実験には6～8週齢のC3H/HeN雄性マウス(n=88)を用いた。動物を対照群(C)、運動負荷終了直後群(E0)、運動負荷3日後群(E3)に分け、運動負荷群にトレッドミル走行(10m/分, 60分間)を一回のみ負荷した。運動負荷終了直後・3日後、および対照群のマウスを同時に屠殺し骨髄細胞と血清を採取した。

骨髄細胞の分化、または分布に運動が影響するかどうかを観察するため骨髄細胞の染色を行った。染色には骨髄幹細胞のマーカーであるCD34、単球系細胞のマーカーであるCD14、顆粒球系細胞のマーカーであるGr-1および、顆粒球・単球系細胞に発現するCD16/32に対する抗体を用い、Flowcytometerを用いて測定し、非運動対照群と比較した。一方、顆粒球・単球系細胞分化増殖因子であるIL-3, GM-CSF, M-CSF, および、食細胞系機能に抑制的に働くと考えられるcorticosteroneに対する感受性の変化の有無を調べるために、一部の骨髄細胞に分化増殖因子各々を添加培養し、それぞれに対する増殖能をWST-8を用いて測定した。さらに、血中における分化誘導因子の有無を調べるため、骨髄細胞に対照群・トレッドミル運動直後・3日後の血清を添加培養し細胞増殖能をWST-8を用いて測定した。

結 果 と 考 察

Flowcytometryの結果、単球系細胞と考えられるCD14⁺細胞の割合が運動3日後に増加することが明らかになった。また、顆粒球系の成熟細胞に相当するGr-1^{bright}CD16/32⁺細胞の割合が

運動直後、3日後に低下する一方、顆粒球系前駆細胞に相当する Gr-1^{duh}CD16/32⁺ 細胞の割合が運動後に増加を示した。さらに、顆粒球細胞の中でも最も未分化段階であると考えられる Gr-1^{duh}CD16/32⁻ 細胞の割合も運動に伴い低下を示した。

WST-8を用いた骨髓細胞増殖試験の結果、運動の有無に関わらず、IL-3、GM-CSF、M-CSFの濃度依存的に骨髓細胞の増殖応答が見られたが、群間には明らかな変化は認められず、運動に伴う顆粒球・単球系前駆細胞における一過性の分布の変化が、これらの分化増殖因子に対する感受性の変化に起因するものではないことが示唆された。

他方、骨髓細胞に運動負荷・非負荷後の血清を添加培養し細胞増殖能を観察したところ、運動負荷3日後の血清に著しい骨髓細胞の増殖促進活性が検出された。しかもこの活性はIL-3、GM-CSF、M-CSFに対する中和抗体で中和されなかった。このことから、骨髓細胞の増殖にはこれら3因子以外の増殖因子が関与するのではないかと考えられた。

今回の実験から、一過性の身体運動が骨髓細胞の分化に作用することが確認された。先行研究の結果をふまえて考えると、運動により骨髓中で分化増殖過程を修飾された細胞が、活性化能の高い単球、またはマクロファージに成熟する可能性が示唆された。また、運動に伴い骨髓細胞に対する増殖促進因子が血中に存在することが確認されたが、その因子の特定は本実験では出来なかった。今後さらに追求すべき点である。

ま と め

一過性の運動に伴い、骨髓細胞中の顆粒球・単球系前駆細胞の分化成熟過程が修飾される可能性が示唆された。この現象への、IL-3、GM-CSF、M-CSFは関与は否定的であり、これら以外の液性因子が血中に誘導される可能性が示された。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、身体運動にともなう単球・マクロファージ機能の賦活化の原因を骨髄での単球成熟過程の修飾にあると推測し、この仮説を検証するために、マウス骨髄における骨髄単球系細胞の分化成熟に及ぼす急性運動負荷の効果を検討したものである。

実験 1 では、7～8 週齢の C3H/HeN マウスに対して 60 分間の低速 (10m/min) トレッドミル走行負荷実施後、経時的に骨髄細胞が採取され、フローサイトメーターにより、骨髄単球系細胞群の分化抗原発現の変化が検索された。その結果、通常マウスでは末梢組織のマクロファージにしか発現しない単球・マクロファージ系分化抗原 CD14 を発現する成熟度の高い単球系細胞が運動 3 日後に骨髄に一過性に出現することが明らかにされた。またこの時同時に骨髄における成熟顆粒球の比率が減少する一方、顆粒球系前駆細胞に相当する Cr-1 弱陽性、IgG-FcR^{II}/III 受容体陽性細胞の比率が増加することも明らかにされた。

実験 2 では、上記の骨髄における顆粒球・単球系細胞の変化の要因が、急性運動負荷に伴う骨髄細胞の分化増殖因子に対する感受性の変化にある可能性が、急性運動負荷後に経時的に採取された骨髄細胞の *in vitro* における顆粒球単球系の分化増殖因子 IL-3, GM-CSF, および M-CSF に対する増殖応答を定量化することにより検討された。しかし骨髄細胞の IL-3, GM-CSF, M-CSF に対する感受性の変化は、少なくとも増殖応答の変化としては検出されなかった。

実験 3 では、実験 2 で急性運動負荷に伴う IL-3, GM-CSF, M-CSF に対する骨髄細胞の感受性の変化がみられなかったため、血中に骨髄単球系細胞分化増殖因子が誘導されている可能性を求め、急性運動負荷後の経時的に採取した血清を、トレッドミル運動未負荷のマウスの骨髄細胞に作用させ、増殖応答に変化が起きる可能性が検討された。その結果、急性運動負荷後 3 日目の血清が骨髄細胞の増殖を促進させることが明らかにされた。この血清中の骨髄増殖促進活性は、IL-3, GM-CSF, M-CSF に対する中和抗体で中和されず、運動後 3 日目の血中に IL-3, GM-CSF, M-CSF 以外の骨髄細胞増殖因子が誘導されたことが示された。

今後、本研究によって明らかにされた骨髄における骨髄単球系細胞の急性運動負荷に伴う分化成熟過程の修飾が、末梢組織におけるこれらの細胞の機能および形態の変化に結びつくことを検証すること、また血中に急性運動負荷後に誘導される骨髄増殖促進因子の同定が行われることが期待される。

以上、本論文は、これまで主として末梢組織における変化としてしかとらえられてこなかった顆粒球・単球系細胞に対する急性ストレッサー負荷の一つである運動負荷の影響が、はじめてその分化成熟過程にあることを明らかにした。運動をはじめとする身体的ストレッサーがどのように生体防御機構の一翼を担う食細胞群を修飾するのか、そのメカニズムを明らかにする手がかりを明らかにした点において本論文はこの研究分野において重要な貢献をなすものであり、学位の授与に値するものと考えられる。